



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



Programa
GALAPAGOS
VERDE 2050
Program

**UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS ESPE
DEPARTAMENTO CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Determinación de la filogenia del género *Scalesia*, endémico de las islas Galápagos, mediante el genoma del cloroplasto para el estudio de la hibridación entre sus especies.

Autor: Enríquez-Moncayo, Cristian Pavel

Director: Flores Flor, Francisco Javier


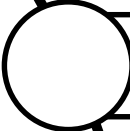
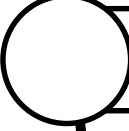
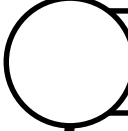
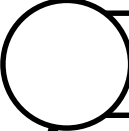
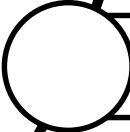

Codirectores: Cerca, José; Jaramillo Díaz, Patricia

Sangolquí, 19 de agosto del 2022



NTNU
Norwegian University of
Science and Technology



-  **Introducción**
-  **Objetivos**
-  **Materiales y métodos**
-  **Resultados y discusión**
-  **Conclusiones**
-  **Recomendaciones**
-  **Agradecimientos**

Familia Asteraceae en las islas Galápagos

Géneros endémicos

Lecocarpus

Darwiniothamnus

Macraea

Scalesia



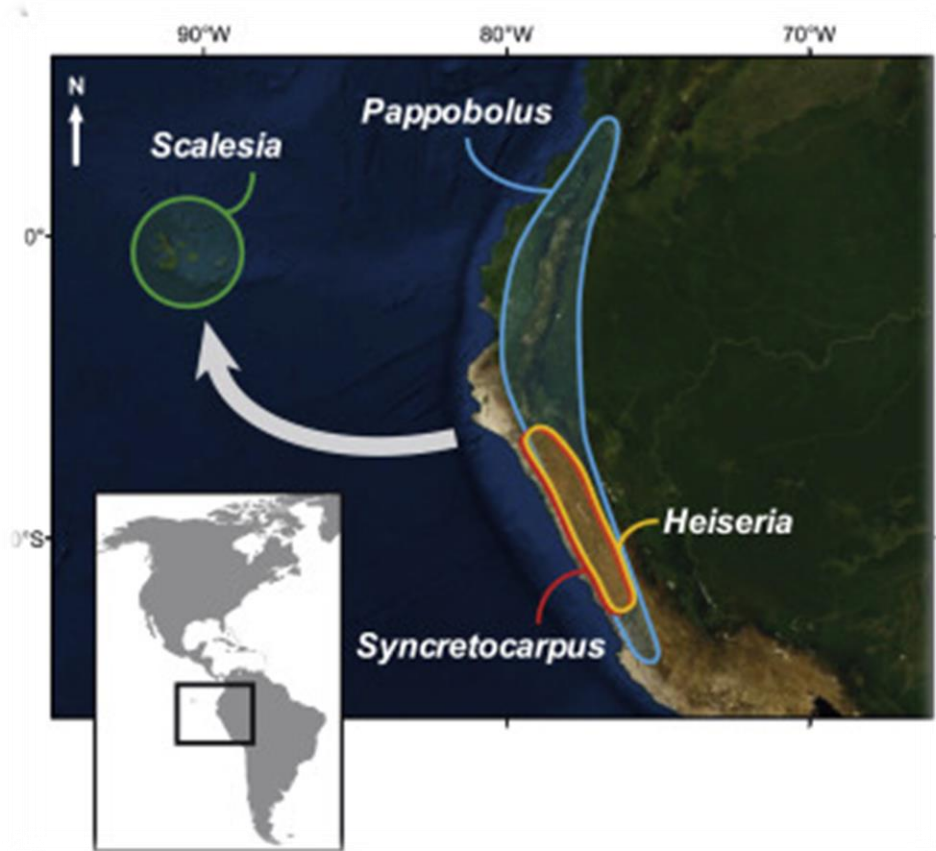
Bungartz (2007)

iNaturalist.com



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

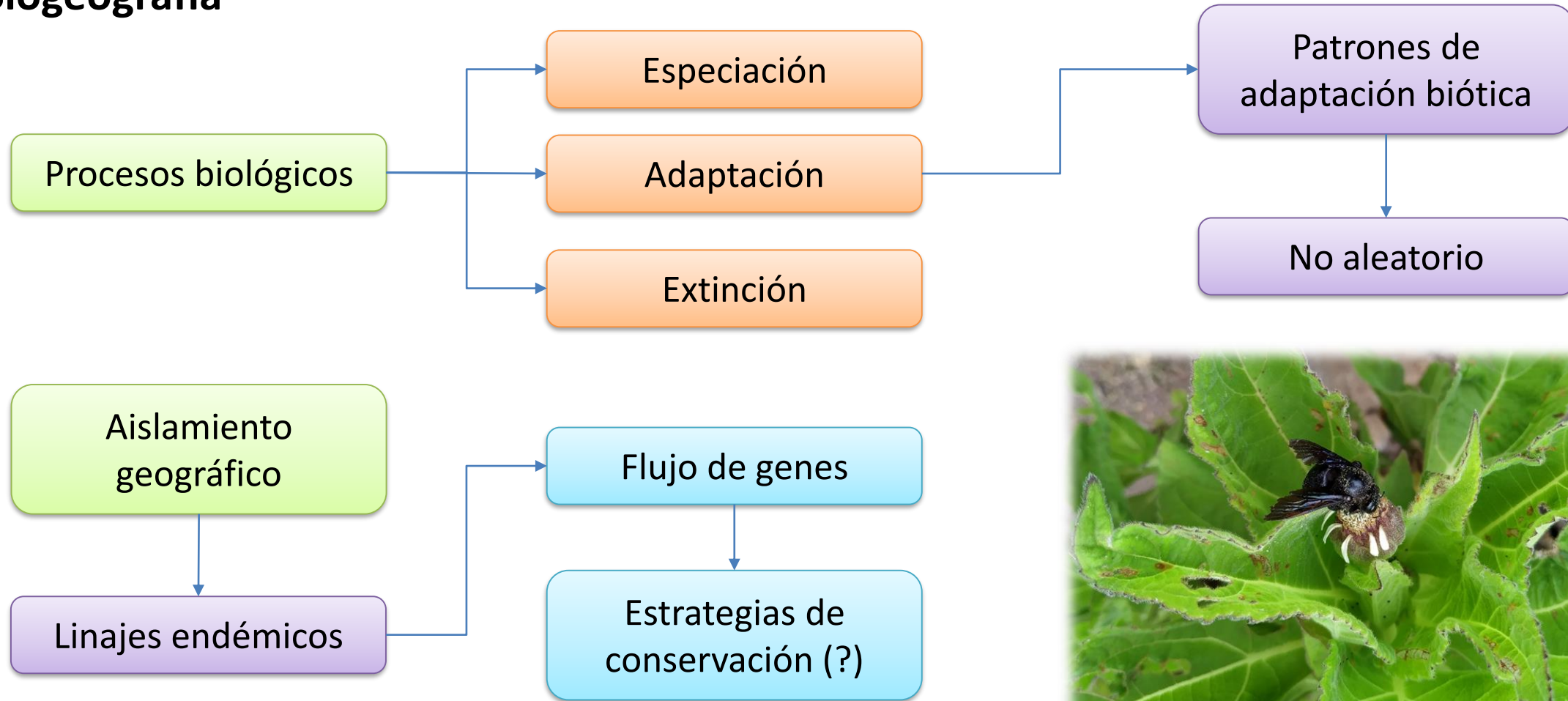
Género *Scalesia*



iNaturalist.com

Adaptado de Fernández-Mazuecos (2020)

Biogeografía



Genómica en plantas y conservación

Estudio de la totalidad del ADN de un organismo

Genes asociados

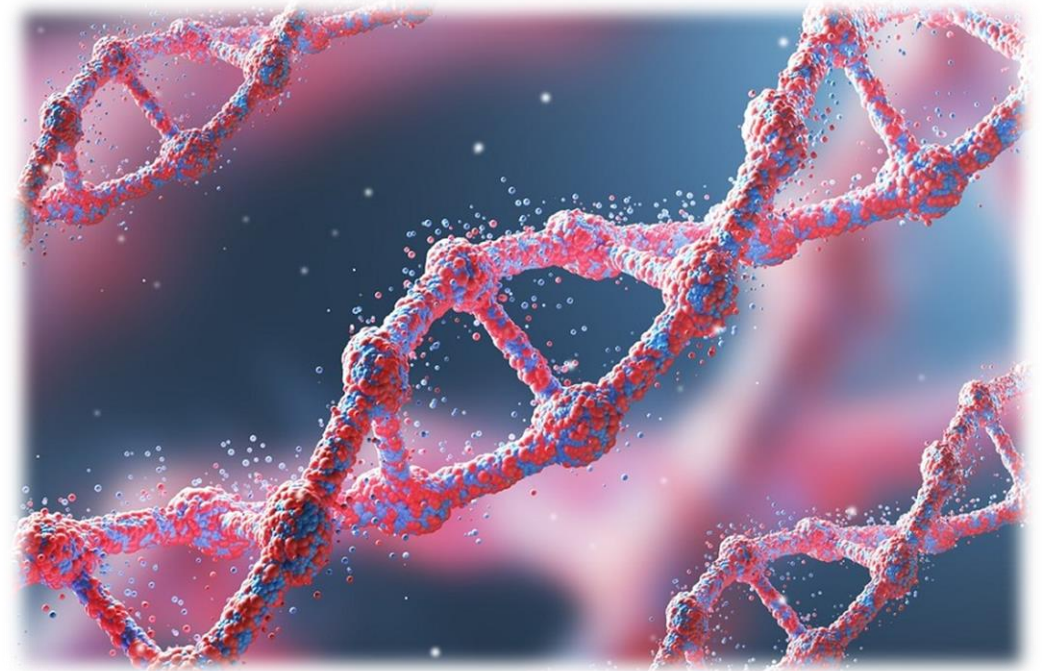
Adaptación y especiación

Diversidad genética

Evolución

Eventos de mezcla

Amenaza para la conservación



ElCronista.com

Filogenia y filogenómica

Estudio de los aspectos evolutivos de un organismo

Análisis filogenético

Resolver relaciones genealógicas entre especies

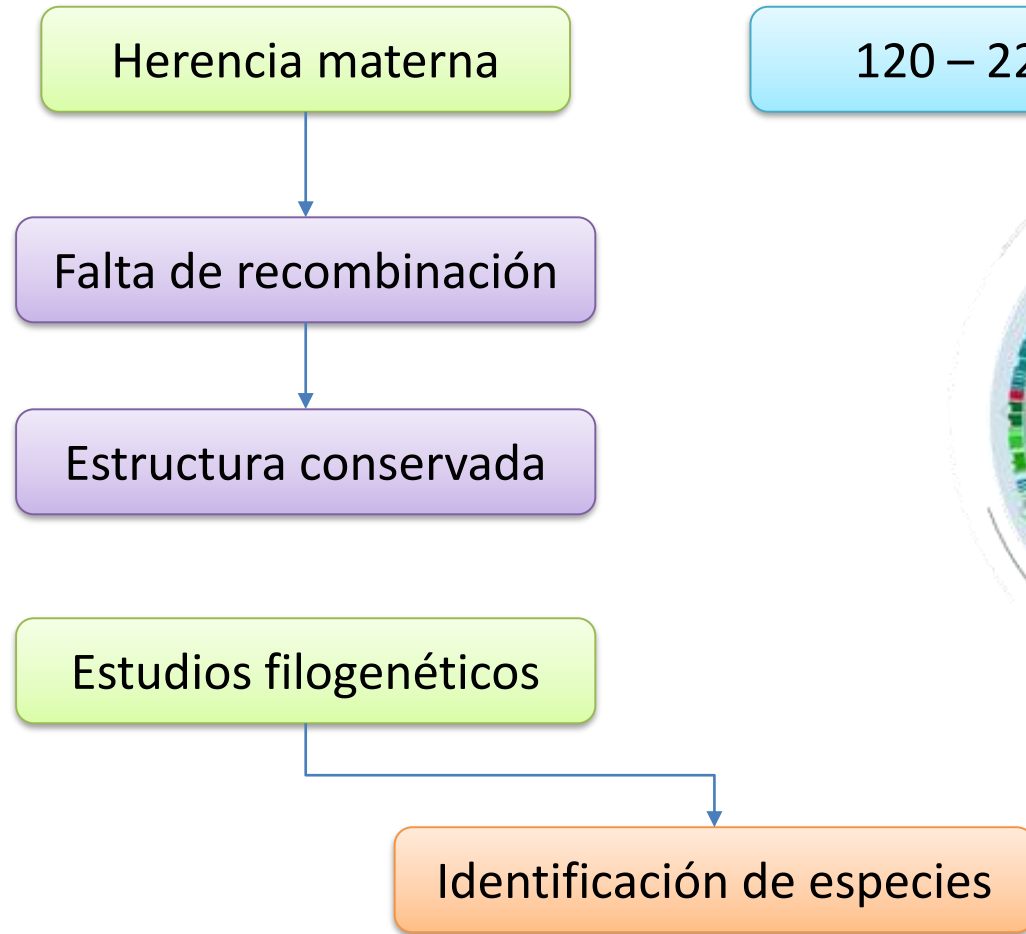
Filogenómica aplicada al cloroplasto

Reconstrucción filogenética de plantas taxonómicamente difíciles

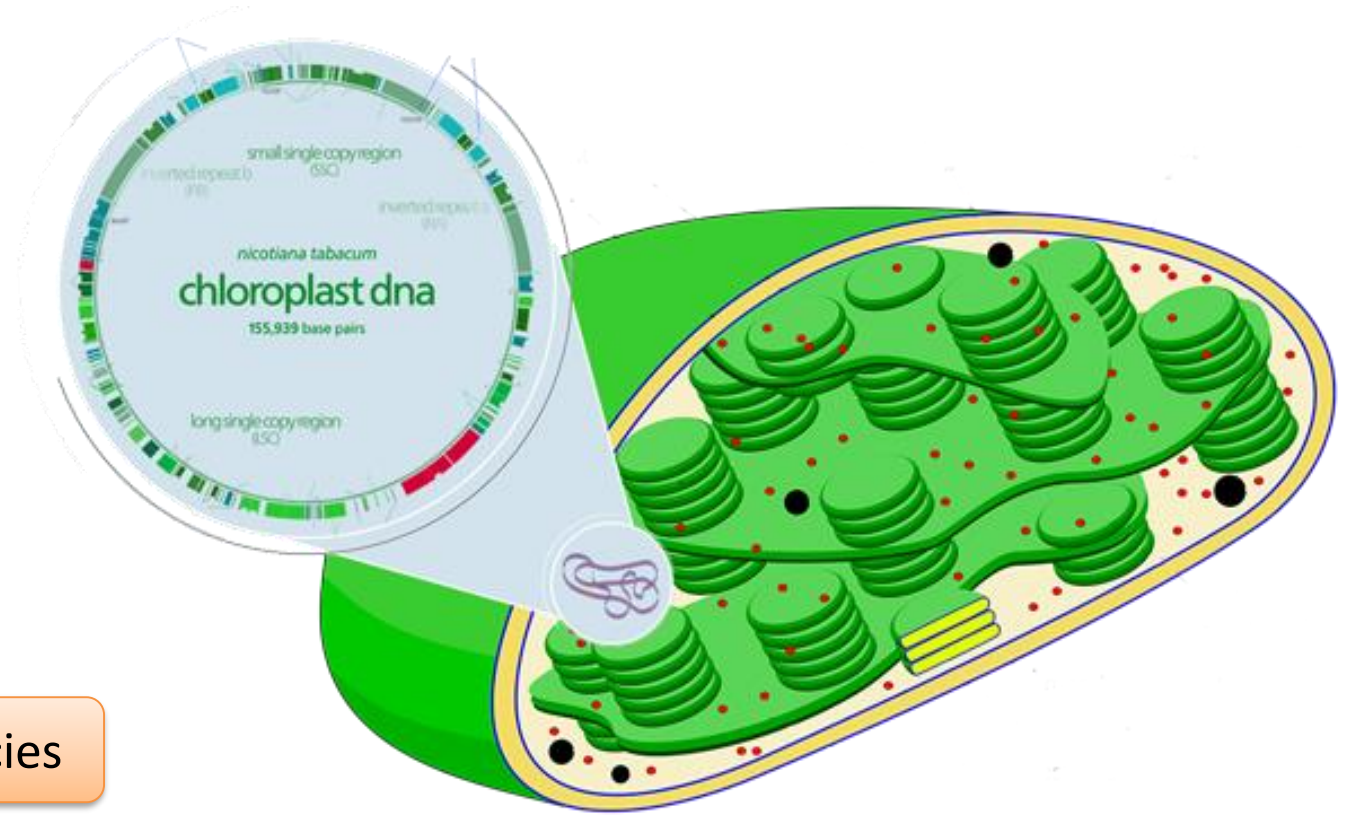
Eventos de hibridación



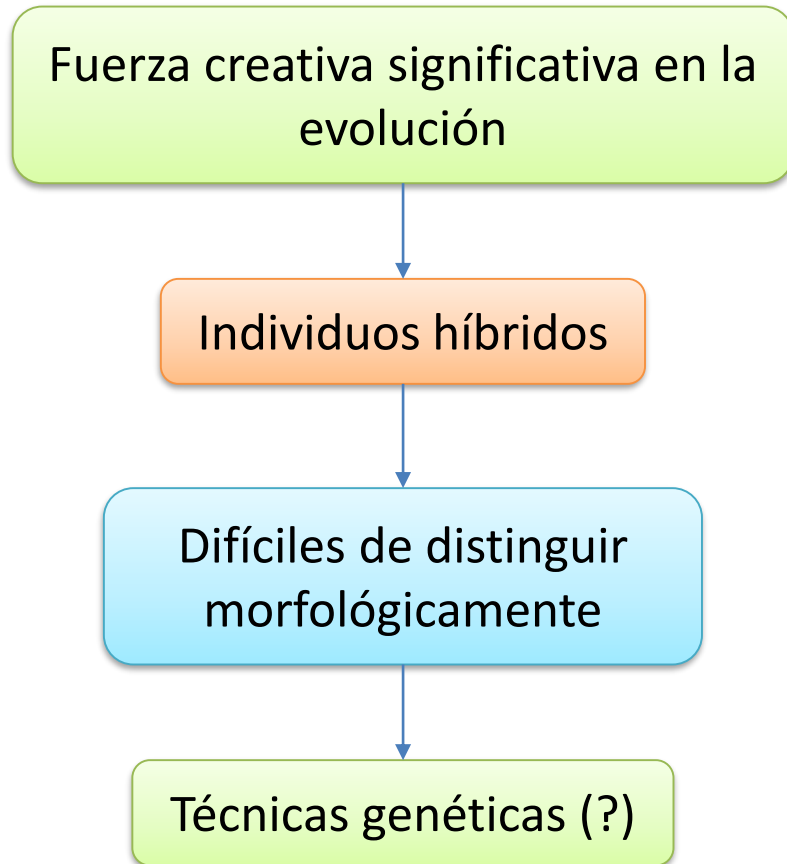
Genoma del cloroplasto




120 – 220 kb



Hibridación



ÍNDICE DE CONTENIDOS

- Introducción
-  **Objetivos**
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones
- Agradecimientos



Objetivo General

Determinar la filogenia del genoma del cloroplasto del género *Scalesia* para el estudio de la hibridación entre sus especies.

Objetivos Específicos

Ensamblar el genoma del cloroplasto de 328 individuos representativos 15 especies de *Scalesia* cuya distribución abarca 11 islas del Archipiélago de Galápagos.

Diagramar una filogenia del cloroplasto con los 328 especímenes de *Scalesia*.

Analizar los eventos de hibridación dentro del género *Scalesia* mediante la comparación con el árbol filogenético del ADN nuclear.

Hipótesis


La filogenia obtenida mediante el genoma del cloroplasto del género *Scalesia* endémico de las islas Galápagos, permite establecer la presencia de hibridación entre sus especies.



Jaramillo Liliana (2021)



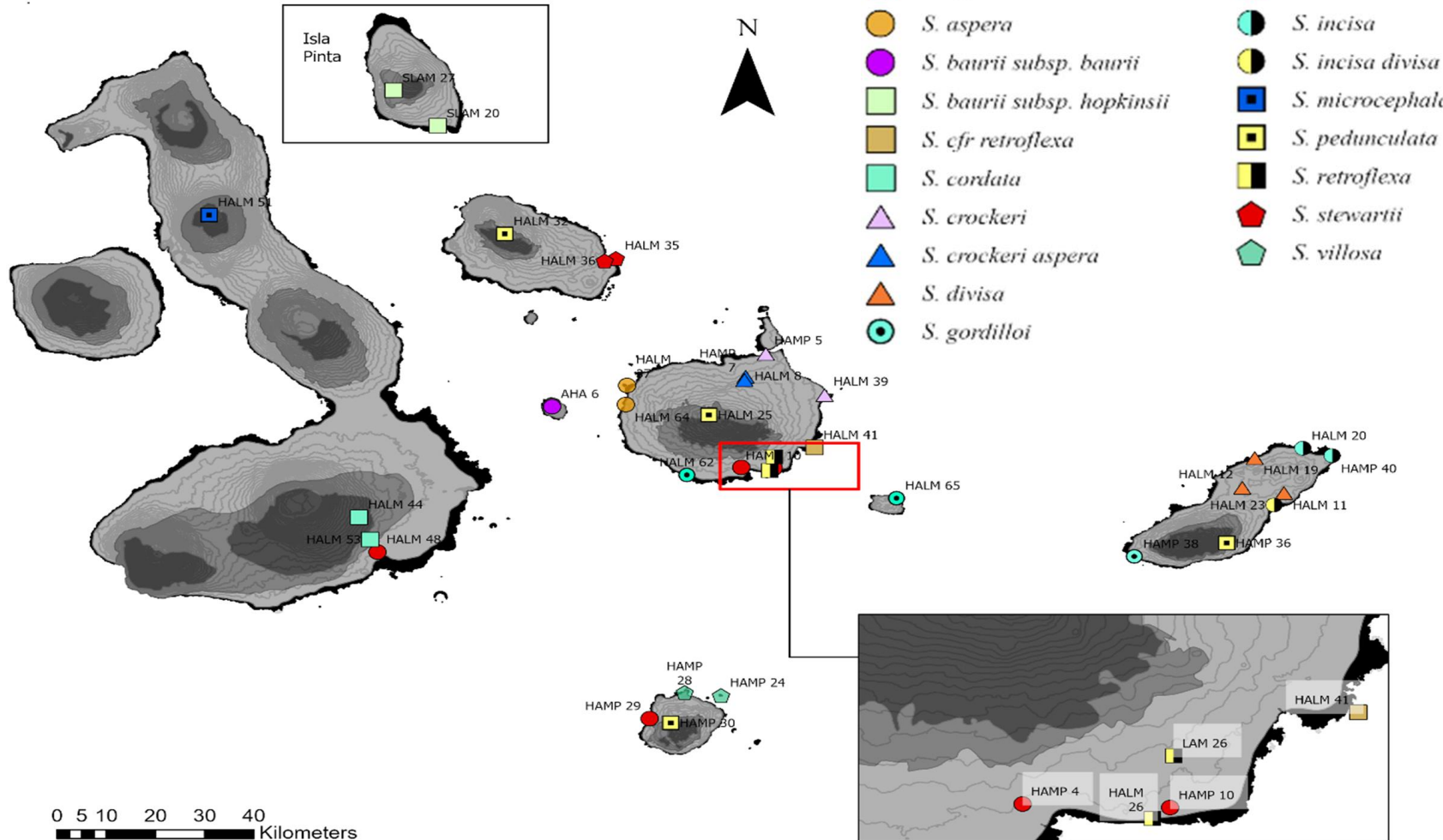
ÍNDICE DE CONTENIDOS

- Introducción
- Objetivos
-  **Materiales y métodos**
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones
- Agradecimientos



MATERIALES Y MÉTODOS

Secuencias de Scalesia



UNIVERSITY OF
COPENHAGEN



NTNU
Norwegian University of
Science and Technology

328 muestras

Cobertura 6x

21 Gb por individuo

Supercomputador Saga



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Ensamblaje *de novo* con Novoplasty v4.2

328 genomas ensamblados

Semilla: *S. gordilloi*

Datos de entrada

FASTQ

FASTA

7 genomas *outgroup*

```
#!/bin/bash

## General things for SAGA
#SBATCH --account=nn9449k
#SBATCH --job-name=concatenate
#SBATCH --time=10:0:0
#SBATCH --mem-per-cpu=150G
#SBATCH --ntasks=1
#SBATCH --partition=bigmem

set -o errexit # Exit the script on any error
set -o nounset # Treat any unset variables as an error
module --quiet purge # Reset the modules to the system default

# running
cd /cluster/work/users/$USER
mkdir -p novop/${specimen}
cd novop/${specimen}

## Load the program
ml NOVOPlasty/4.2-intel-2019b-Perl-5.30.0

cp /cluster/projects/nn9449k/pavel/02_novoplasty/config.txt .

sed -i "s/XXX/${specimen}/" config.txt

NOVOPlasty4.2.pl -c config.txt
```



Alineamiento de genomas

335 genomas alineados

MAFFT V7.490



10Gb memoria

20 ordenadores

2 días

Visualización en AliView v1.28

```
#!/bin/bash

## General things for SAGA
#SBATCH --account=nn9449k
#SBATCH --job-name=alignment_0
#SBATCH --time=2-0:0:0
#SBATCH --mem-per-cpu=10G
#SBATCH --ntasks=20

set -o errexit # Exit the script on any error
set -o nounset # Treat any unset variables as an error
module --quiet purge # Reset the modules to the system default
ml MAFFT/7.490-GCC-10.3.0-with-extensions

mafft --auto --thread 20 cloroplast_genomes.fasta > cloroplast_genomes.fai
```


Árbol filogenético

IQ-TREE V2.1.3

Modelo de mejor ajuste

K3Pu+F+R7

ModelFinder

Método ML

Visualización en FigTree v1.4.4

```
#!/bin/bash

## General things for SAGA
#SBATCH --account=nn9449k
#SBATCH --job-name=tree
#SBATCH --time=2-0:0:0
#SBATCH --mem-per-cpu=2G
#SBATCH --ntasks=5 --nodes=1

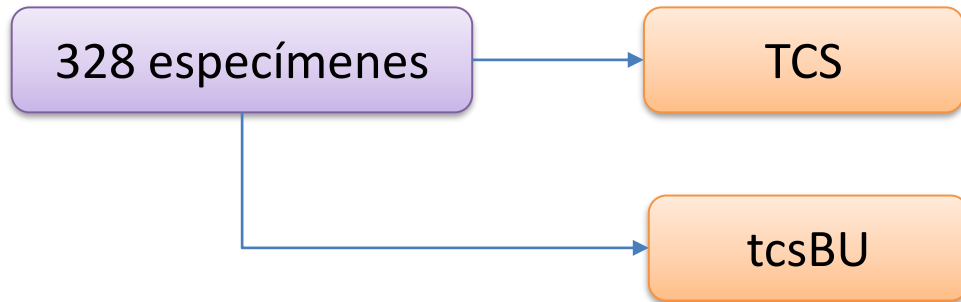
set -o errexit # Exit the script on any error
set -o nounset # Treat any unset variables as an error
module --quiet purge # Reset the modules to the system default

ml IQ-TREE/2.1.3-gompi-2021a
cd /cluster/projects/nn9449k/pavel/08_tree

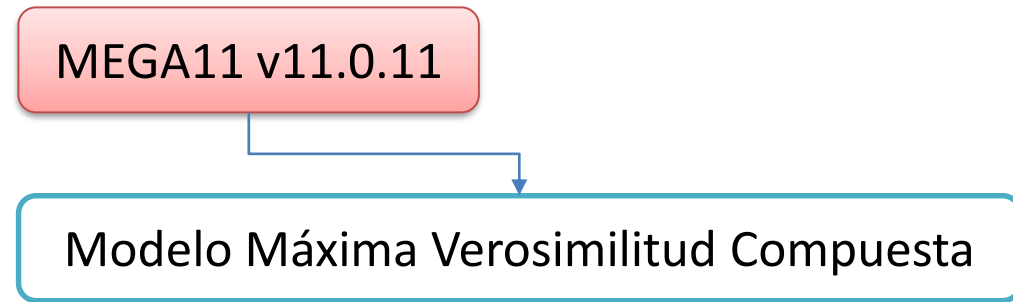
iqtree2 -s chloroplast_rename.fai -T 5 -B 1000
```



Red de Haplotipos




Distancias Genéticas



Análisis de Hibridación

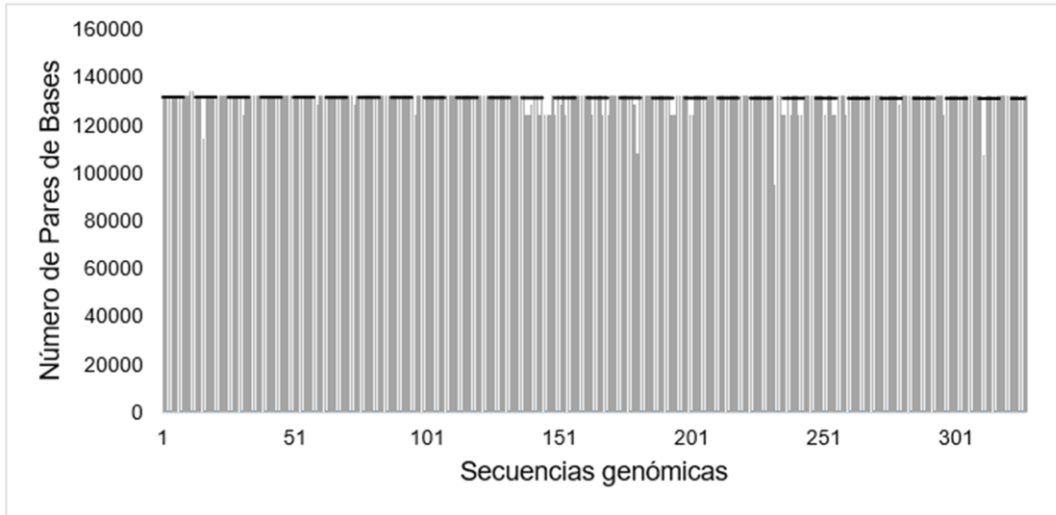


ÍNDICE DE CONTENIDOS

- Introducción
- Objetivos
- Materiales y métodos
-  **Resultados y discusión**
- Conclusiones
- Recomendaciones
- Agradecimientos



Ensamblajes *de novo*

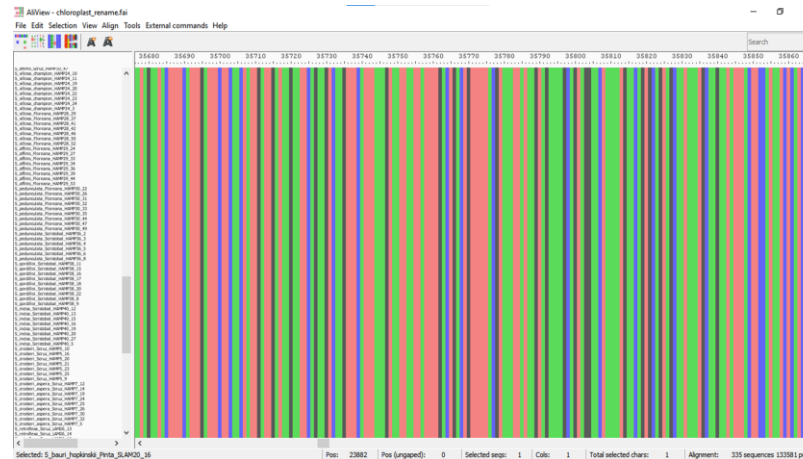


Promedio: 131.891 pb

Contig por secuencia: 1

Alineamiento de genomas

BLAST de secuencias genómicas



NOVOPlasty

A. thaliana



O. sativa

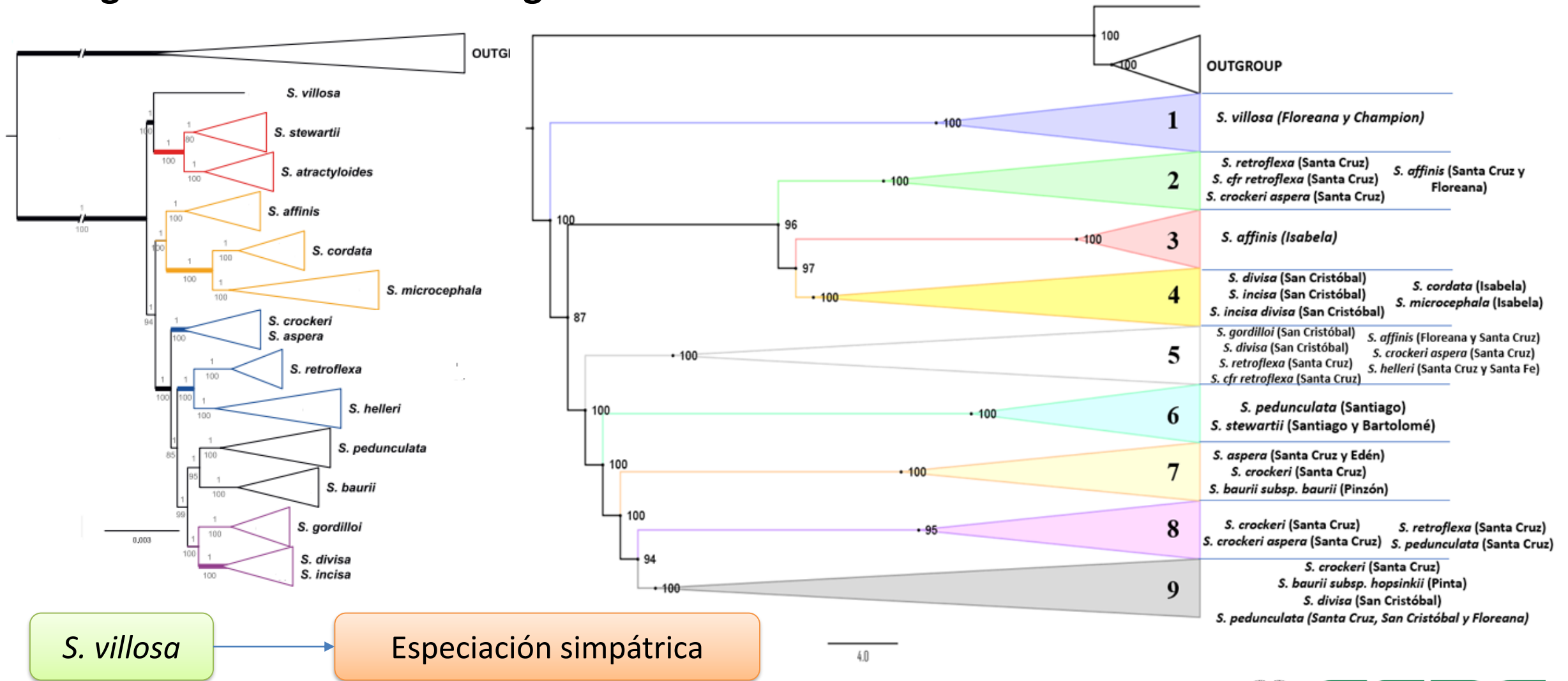


A. marina

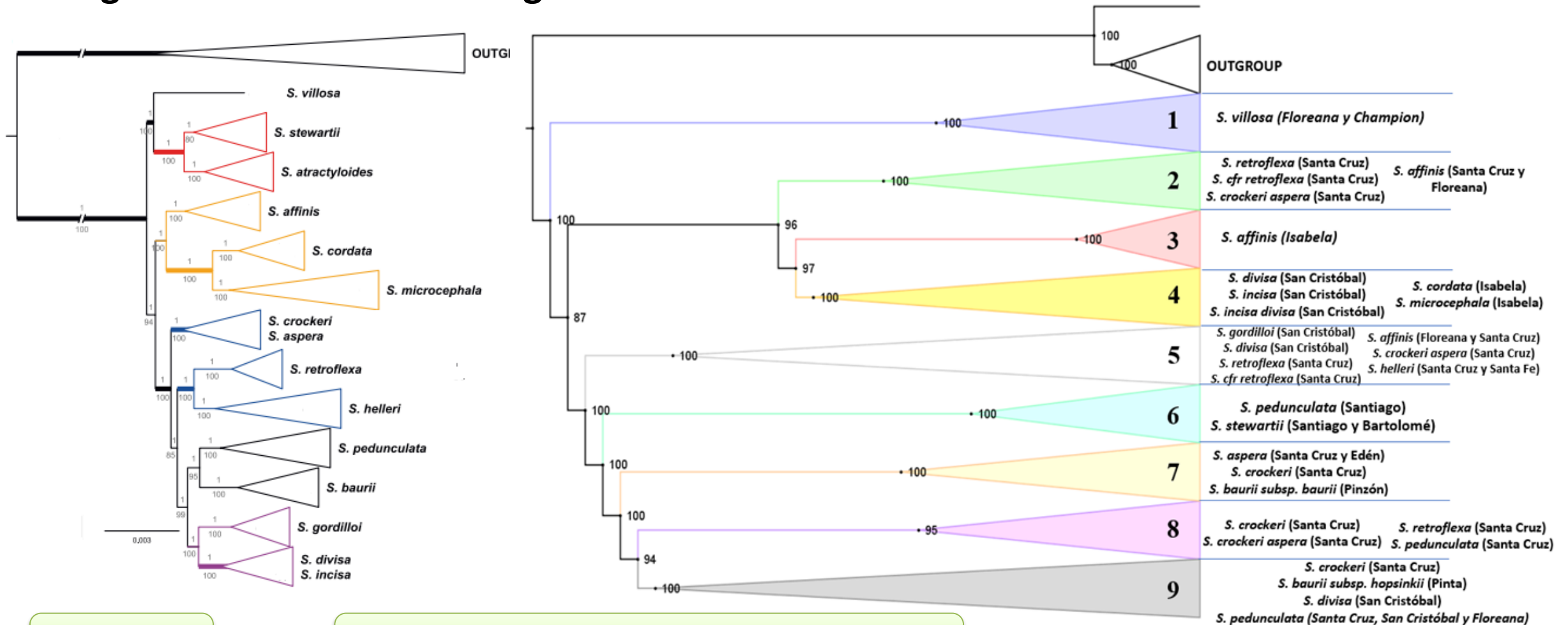


Adaptado de Dierckxsens *et al.* (2017)

Filogenia e hibridación en el género *Scalesia*



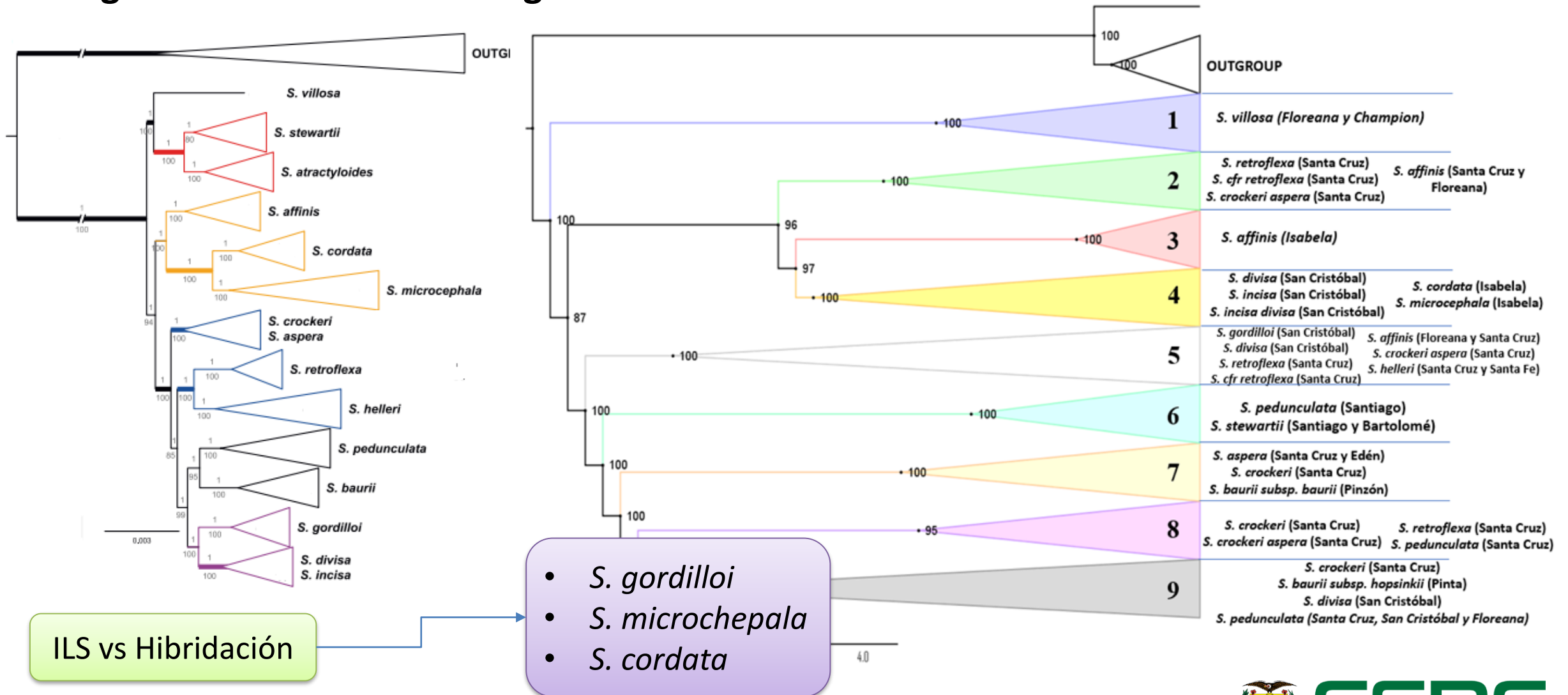
Filogenia e hibridación en el género *Scalesia*



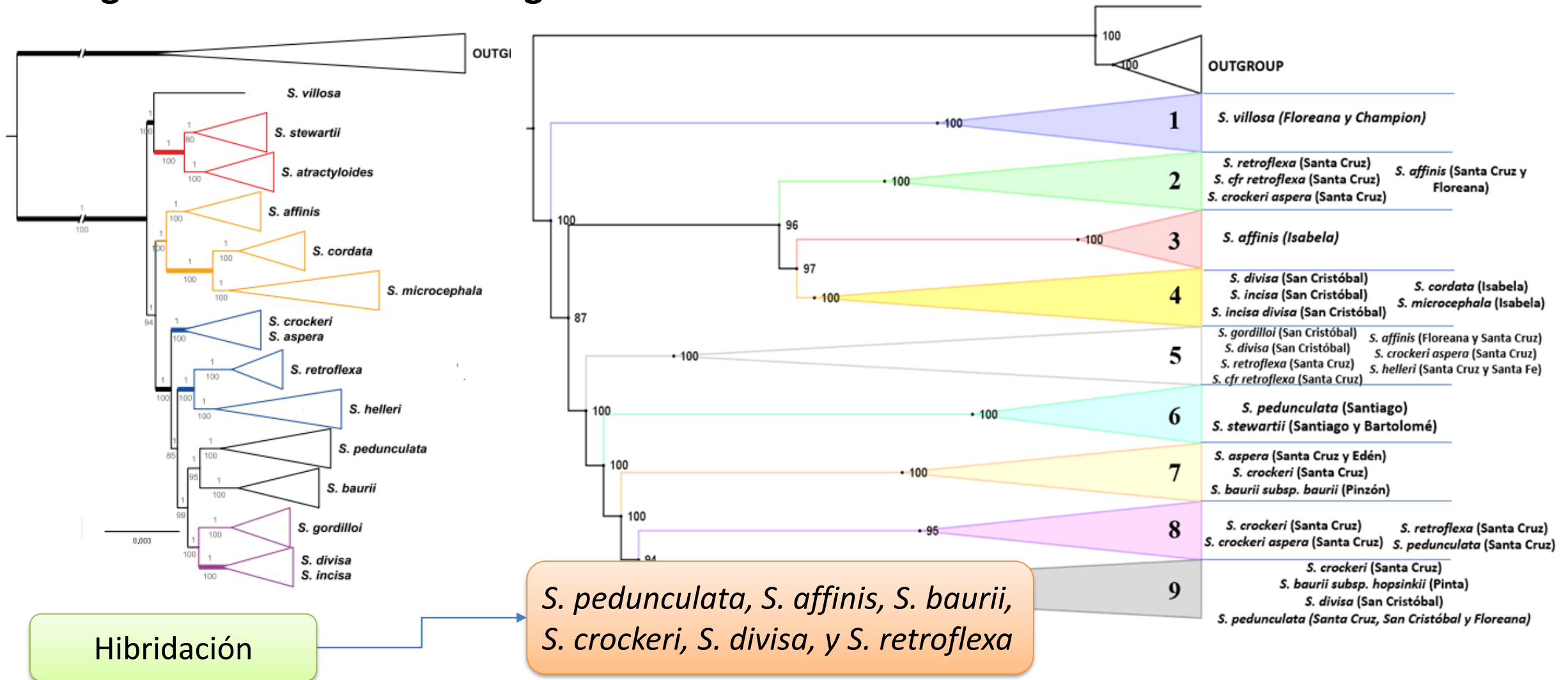
S. affinis

Isabela separado de Santa Cruz y Floreana

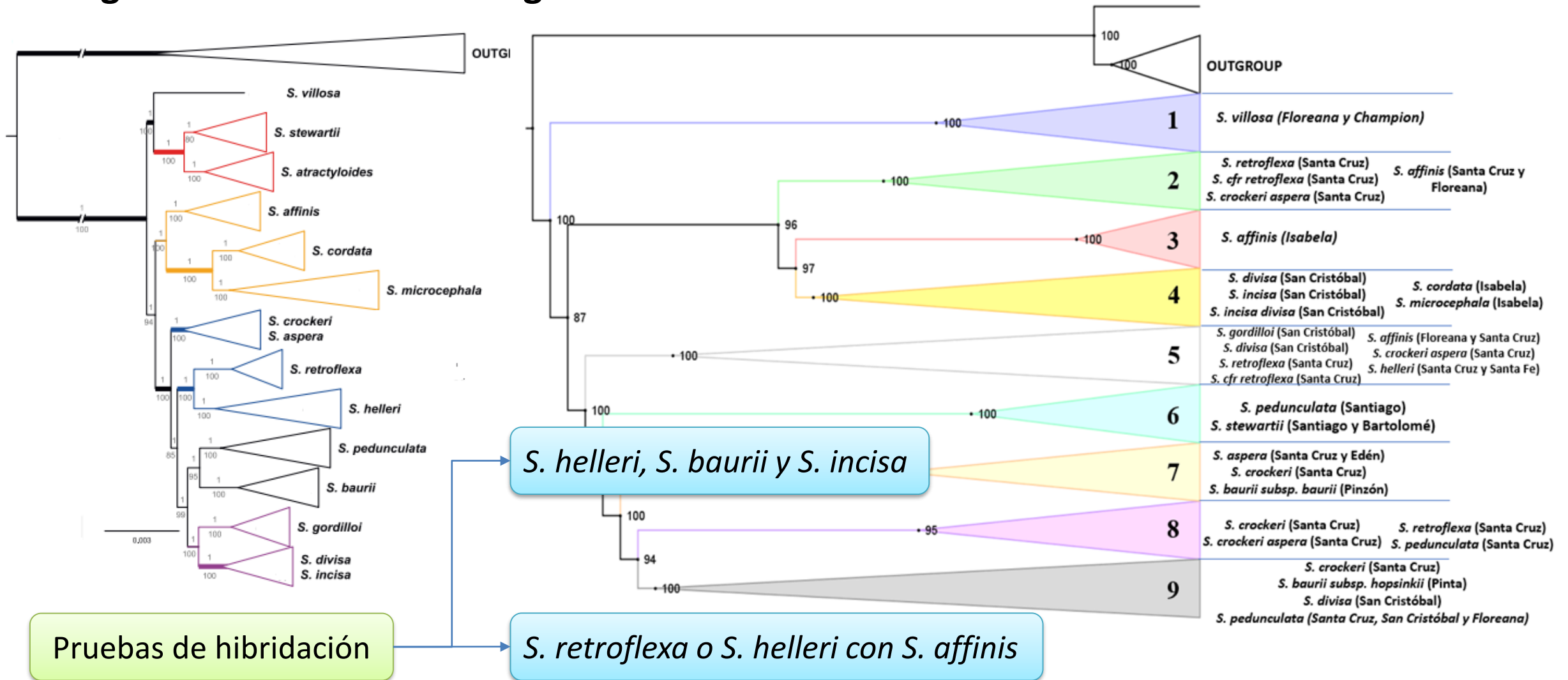
Filogenia e hibridación en el género *Scalesia*



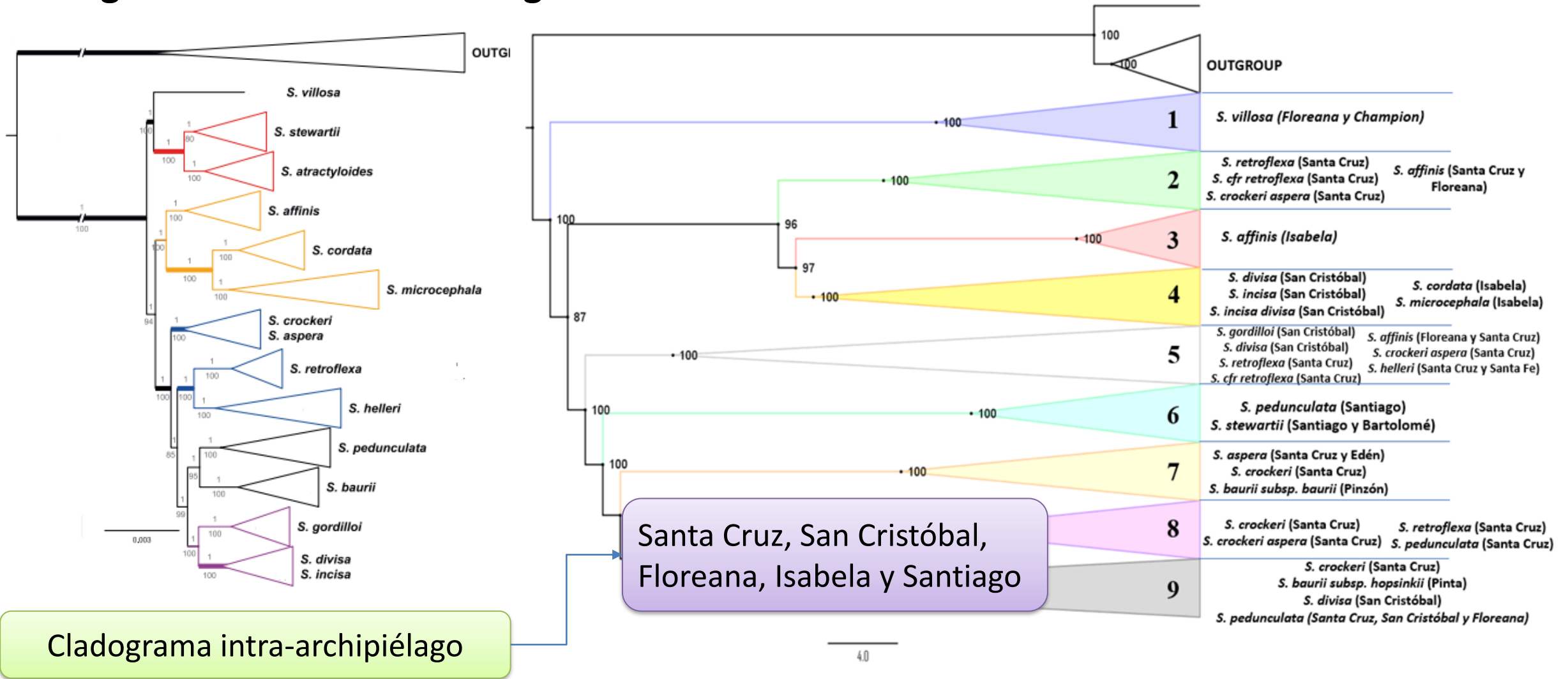
Filogenia e hibridación en el género *Scalesia*



Filogenia e hibridación en el género *Scalesia*



Filogenia e hibridación en el género *Scalesia*



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Red de haplotipos

84 haplotipos

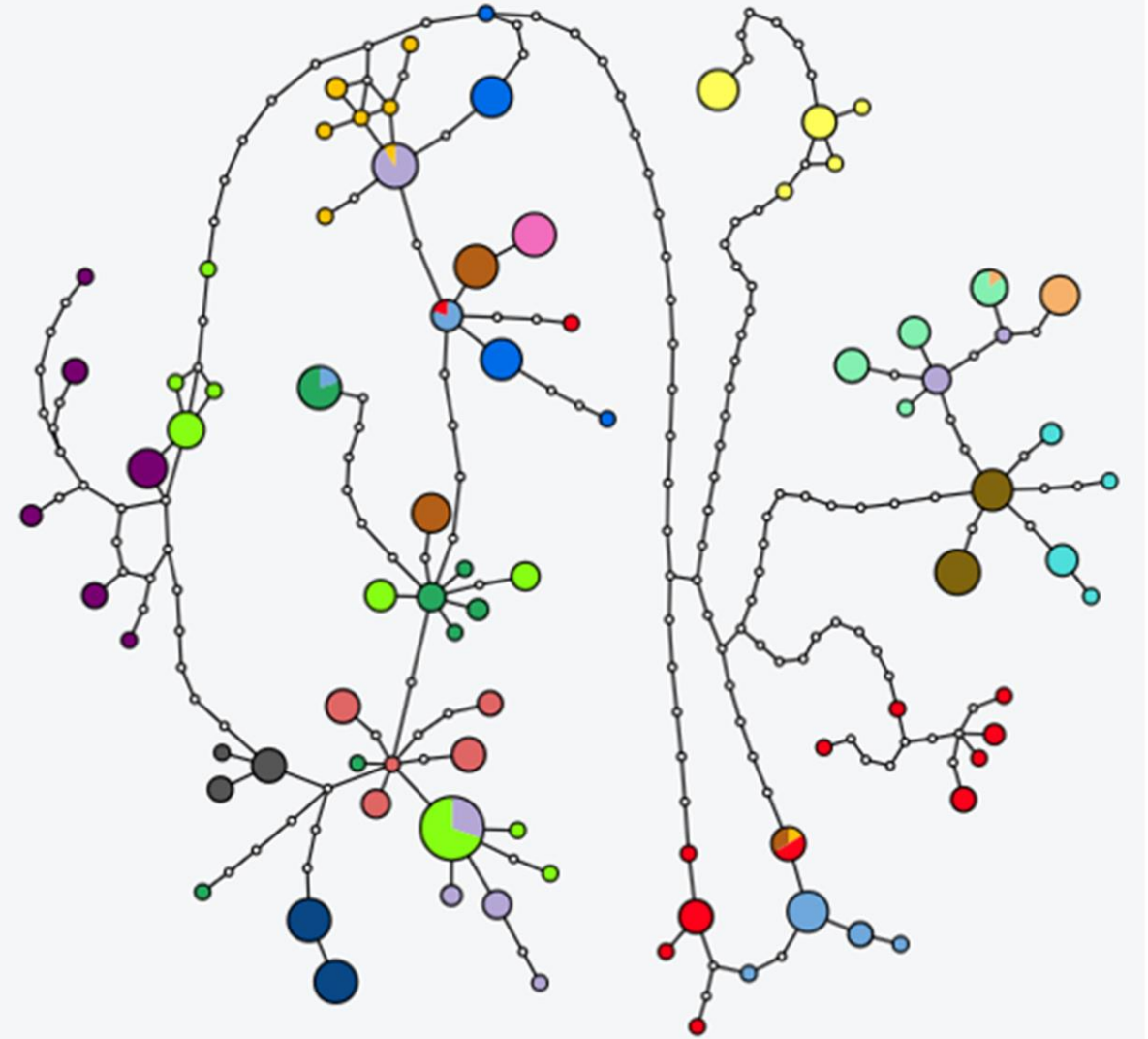
Haplotipos compartidos entre especies

Más de un haplotipo por especie

Haplotipos de especies en varias regiones

Haplotipos interiores + antiguos

Haplotipos únicos o terminales + recientes



Distancias genéticas

Promedio: 0,000279%


Valores en otros estudios

0,0002% - 0,006%

Genomas altamente conservados

Especie	Poblaciones	Rango de distancia genética (%)
<i>S. affinis</i>	HALM 48, HAMP 4, HAMP 10, HAMP 29	0 - 0,0002
<i>S. aspera</i>	HALM 37, HALM 64	0 - 0,000008
<i>S. baurii</i>	AHA 6, SLAM 20, SLAM 27	0 - 0,00004
<i>S. cordata</i>	HALM 44, HALM 53	0 - 0,00001
<i>S. divisa</i>	HALM 11, HALM 12, HALM 19	0 - 0,0002
<i>S. gordilloi</i>	HAMP 38	0
<i>S. crockeri</i>	HALM 39, HAMP 5	0 - 0,00009
<i>S. crockeri aspera</i>	HALM 8, HAMP 7	0 - 0,0002
<i>S. helleri</i>	HALM 62, HALM 65	0,00003 - 0,0001
<i>S. incisa</i>	HALM 20, HAMP 40	0 - 0,00003
<i>S. incisa divisa</i>	HALM 23	0 - 0,00002
<i>S. microcephala</i>	HALM 51	0 - 0,00004
<i>S. pedunculata</i>	HALM 25, HALM 32, HAMP 30, HAMP 36	0 - 0,0001
<i>S. retroflexa</i>	HALM 26, LAM 26	0,00006 - 0,0001
<i>S. cfr retroflexa</i>	HALM 41	0,000007 - 0,0002
<i>S. stewartii</i>	HALM 35, HALM 36	0 - 0,00008
<i>S. villosa</i>	HAMP 24, HAMP 28	0 - 0,00006

ÍNDICE DE CONTENIDOS

- Introducción
- Objetivos
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
-  **Conclusiones**
- Recomendaciones
- Agradecimientos



CONCLUSIONES

Se ensamblaron 335 secuencias genómicas de 14 especies de *Scalesia* y tres especies morfológicamente híbridas.


El árbol filogenético y la red de haplotipos del genoma del cloroplasto de *Scalesia* evidenció el comportamiento polifilético de las especies *S. affinis*, *S. baurii*, *S. crockeri*, *S. divisa*, *S. incisa*, *S. pedunculata*, y *S. retroflexa*.

Se encontraron diferencias entre la filogenia del genoma del cloroplasto y el genoma nuclear, con lo cual se pudo inferir eventos de hibridación entre las especies catalogadas como polifiléticas. La red de haplotipos sugiere la hibridación de *S. divisa* con *S. pedunculata*, *S. incisa*, *S. cordata*, *S. helleri*, y *S. baurii*; *S. affinis*, con *S. retroflexa*; o *S. pedunculata* con *S. crockeri*, *S. stewartii*, y *S. baurii*.

Los procesos evolutivos producto del flujo genético continúan divergiendo hacia nuevas especiaciones en islas no pobladas, o hacia la pérdida de linajes puros producto del desplazamiento de las poblaciones por el desarrollo urbano.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

- Introducción
- Objetivos
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
-  **Recomendaciones**
- Agradecimientos



RECOMENDACIONES

Incluir a *S. atractyloides* en el estudio de la filogenia del genoma del cloroplasto del género *Scalesia*.


Desarrollar una investigación en la cual se mantenga el mismo número de poblaciones muestreadas y el mismo número de muestra por población para cada especie de *Scalesia*.

Comparar los especímenes catalogados como híbridos desde la UCPH con los almacenados en el herbario de la Estación Científica Charles Darwin, y contrastar su clasificación como híbridos de acuerdo a caracteres morfológicos utilizando claves taxonómicas.

Incluir pruebas de hibridación en los estudios de filogenia del genoma del cloroplasto.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

- Introducción
- Objetivos
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones
-  **Agradecimientos**



AGRADECIMIENTOS

Francisco Flores Flor



Patricia Jaramillo Díaz



José Cerca



NTNU – Trondheim
Norwegian University of
Science and Technology

